

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 58-116686

(43)Date of publication of application : 11.07.1983

(51)Int.Cl.

C12P 1/06
A01N 63/02
C07G 11/00
//(C12P 1/06
C12R 1/465)

(21)Application number : 56-214547

(71)Applicant : IDEMITSU KOSAN CO LTD

(22)Date of filing : 29.12.1981

(72)Inventor : SUZUKI GENSHI
KOBAYASHI IZUMI
MITSUTAKE KENICHIRO

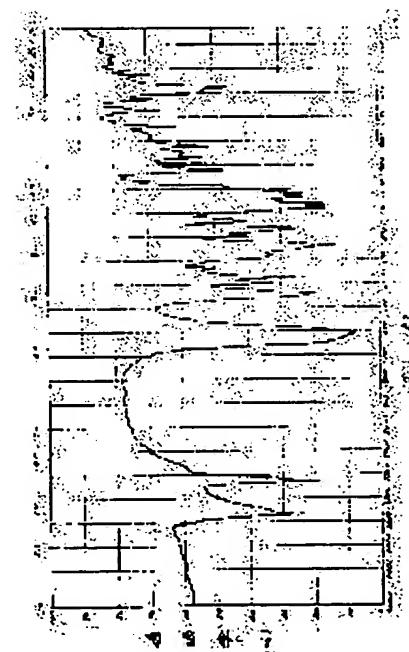
(54) NOVEL ANTIBIOTIC SUBSTANCE SI-4228 SUBSTANCE, ITS PREPARATION AND AGRICULTURAL FUNGICIDE CONTAINING SAID SUBSTANCE AS ACTIVE COMPONENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a fungicide containing a specific novel antibiotic substance derived from microorganism belonging to Streptomyces genus as an active component, and useful as an agricultural fungicide, pharmaceutical, etc.

CONSTITUTION: The fungicide contains, as an active component, the novel antibiotic substance SI-4228 having the following properties. (a) Elemental analysis, C 62.1%, H 7.4%, N 0%; (b) molecular weight, 480 (by vapor pressure using chloroform as the solvent); (c) infrared absorption spectrum, as shown in the figure; (d) ultraviolet absorption spectrum, a particular pattern (omitted); (e) nuclear magnetic resonance spectrum, a particular pattern (omitted), (f) specific rotation, $[\alpha]$

25D=+73° (C=1.0, methanol); (g) solubility, soluble in methanol, benzene, etc. and insoluble in water and n-hexane; (h) neutral (by electrophoresis); (i) color reaction, positive to ferric chloride, etc. and negative to ninhydrin; (j) melting point, 114W116°C; (k) appearance, white acicular crystal. The antibiotic substance SI-4228 is remarkably effective especially to gray



mold, sheath blight, rice blast, etc.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—116686

⑤ Int. Cl. ³	識別記号	庁内整理番号	⑬ 公開 昭和58年(1983)7月11日
C 12 P 1/06		6760—4B	
A 01 N 63/02		7731—4H	発明の数 3
C 07 G 11/00		6956—4H	審査請求 未請求
//(C 12 P 1/06		—	
C 12 R 1/465)		6760—4B	(全 14 頁)

⑭ 新規抗生物質 S I - 4228 物質、その製造方法
およびそれを有効成分とする農業用殺菌剤

千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1218
番地の2

⑯ 特 願 昭56—214547

⑰ 発 明 者 光武賢一郎

⑱ 出 願 昭56(1981)12月29日

千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1727
番地

⑲ 発 明 者 鈴木源士

⑳ 出 願 人 出光興産株式会社

千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1660
番地

東京都千代田区丸の内三丁目 1
番 1 号

㉑ 発 明 者 小林泉

㉒ 代 理 人 弁理士 久保田藤郎

明 細 書

(イ) 融 点 114 ~ 116 °C

(ロ) 物質の色 白色針状結晶

1. 発明の名称

新規抗生物質 S I - 4228, その製造方法およびそ
れを有効成分とする農業用殺菌剤

2. ストレプトミセス属に属し、下記の性質を有
する抗生物質 S I - 4228

2. 特許請求の範囲

1. 下記の性質を有する新規抗生物質 S I - 4228。

(イ) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(イ) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(ロ) 分子 量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(ロ) 分子 量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(ハ) 赤外線吸収スペクトル 第 1 図に示す通りである。

(ハ) 赤外線吸収スペクトル 第 1 図に示す通りである。

(ニ) 紫外線吸収スペクトル 第 2 図に示す通りである。

(ニ) 紫外線吸収スペクトル 第 2 図に示す通りである。

(ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第 3 図に示す通りである。

(ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第 3 図に示す通りである。

(ヘ) 比 旋 光 度 $[\alpha]_D^{25} = +73$ (C=1.0, メタノール)

(ヘ) 比 旋 光 度 $[\alpha]_D^{25} = +73$ (C=1.0, メタノール)

(ト) 溶 解 性 メタノール, エタノール, アセトン,
酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, ク
ロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水、
n-ヘキサンに不溶

(ト) 溶 解 性 メタノール, エタノール, アセトン,
酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, ク
ロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水、
n-ヘキサンに不溶

(チ) 中 性 (電気泳動法による)

(チ) 中 性 (電気泳動法による)

(リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェ
ニルヒドラジンに陽性、ニンヒド
リンに陰性

(リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェ
ニルヒドラジンに陽性、ニンヒド
リンに陰性

(イ) 融 点 114 ~ 116 °C

(ロ) 物質の色 白色針状結晶

を生産する能力を有する微生物を培養し、培養物から上記抗生物質を採取することを特徴とする新規抗生物質 SI - 4228 の製造法。

3 ストレプトミセス菌に属し、抗生物質 SI - 4228 を生産する能力を有する微生物がストレプトミセス・エスピー SI - 4228 (FERM P - 6198) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

4. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI - 4228

- (1) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%
- (2) 分子量 480 (蒸気圧法による溶媒: クロロホルム)
- (3) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
- (4) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
- (5) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
- (6) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +7.3$ (D=1.0, メタノール)
- (7) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水、n-ヘキサンに不溶
- (8) 中性 (電気泳動法による)

- 3 -

審判しうる微生物が用いられ、具体的には本発明者らが宮崎県都城市山林から分離したストレプトミセス・エスピー SI 4228 株がある。この菌株の菌学的性質を以下に示す。

I 形態

- (1) 胞子形成菌糸の分枝法 単純分枝
- (2) 胞子形成菌糸の形態 直線状
- (3) 胞子の数 10 胞子以上 ϕ 連鎖
- (4) 胞子の表面造形 滑らか
- (5) 胞子の大きさ $0.75 \mu\text{m} \times 1.25 \mu\text{m}$
- (6) 鞭毛胞子 無
- (7) 胞子のう 無
- (8) 胞子柄着生位置 菌糸上
- (9) 菌核形成 無

II 各種培地における生育状態

(1) 栄養寒天培地

生育: やや悪く、裏面は周辺部で淡黄色 (2.5 Y, 8.5/6), 中心部で透明
 菌糸: 着生せず
 可溶性色素: 生成せず

(1) 呈色反応 化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(2) 融点 $114 \sim 116^\circ\text{C}$

(3) 物質の色 白色針状結晶

を有効成分として含有する農薬用殺菌剤。

5. 灰色カビ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

6. 炭疽病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

7. 紋枯病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

8. イモチ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は新規抗生物質 SI - 4228, その製造法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤に関する。

本発明の新規抗生物質 SI - 4228 の生産菌としては、その培養物中に十分な量の該抗生物質を

- 4 -

(2) グリセリン・アスパラギン寒天培地

生育: やや悪く、裏面は淡赤褐色 (10 R, $\frac{3}{4}$)

菌糸: 一面に粉状に着生し、やや赤味を帯びた灰色 (5 Y R, $\frac{6}{1}$)

可溶性色素: 生成せず

(3) シュークロース・硝酸塩寒天培地

生育: 普通の生育をし、裏面は周辺部でエビ茶色 (7.5 R, $\frac{2}{6}$), 中心部で明るい赤褐色 (7.5 R, $\frac{4}{6}$)

菌糸: まばらに着生するが、周辺部で比較的良くやや赤味を帯びた灰色 (2.5 Y R, $\frac{7}{2}$)

可溶性色素: 淡赤褐色


(4) グルコース・アスパラギン寒天培地

生育: やや悪く、裏面は黄土色 (10 Y R, $\frac{5}{6}$)

菌糸: 一面に粉状に着生し、やや赤味を帯びた灰色 (5 Y R, $\frac{7}{2}$)

可溶性色素: 生成せず

(5) デンプン・無塩寒天培地

生育：普通の生育をし、は周辺部で象牙色(5Y, 8⁵/₆)、中心部で白色

気菌糸：一面に粉状に着生し、灰白色(10R, 8¹/₁)

可溶性色素：生成せず

(6) チロシン寒天培地

生育：普通の生育をし、表面は茶褐色(2.5YR, 2²/₂)

気菌糸：一面に旺盛に着生し、灰色(10R, 5¹/₁)でビロード状

可溶性色素：淡褐色

(7) 酵母・麦芽寒天培地

生育：普通の生育をし、表面は黄土色(10YR, 6⁶/₆)

気菌糸：まばらに着生するが、周辺部で比較的良く着生し灰色(10YR, 6⁶/₁)

可溶性色素：淡黄色

(8) オートミール寒天培地

生育：普通の生育をし、表面は周辺部で黄土色(7.5YR, 5⁵/₆)、中心部で無色

- 7 -

上記したストレプトミセス・エスビーSI-4228株の附学的性質の特徴をまとめると次の通りである。

- (1) 灰色の気菌糸を着生する
- (2) 気菌糸は単純分枝し、直線状である
- (3) 胞子平面は平滑である
- (4) 胞子は10胞子以上連鎖する
- (5) メラニン様色素を生成する
- (6) 脱脂牛乳を凝固せず、ペプトン化しない
- (7) デンプンを良く分解する
- (8) 淡黄色ないし淡褐色の色素以外に特徴的な色素を生産しない
- (9) 各種の糖を良く利用する

以上の諸性質を有する既知菌株としてハ・ストレプトミセス・フェオブレンス (*Streptomyces phaseopurpureus*, International Journal of Systematic Bacteriology, 第3巻, 第35頁, 1968年) が挙げられる。しかしながら、オートミール、グリセリン、アスパラギン、シュクロース、硝酸塩等の各寒天培地上でSI-4228株の生育の表面は淡黄色な

気菌糸：まばらに着生するが、周辺部で比較的良く着生し灰色(5YR, 7⁷/₁)

可溶性色素：淡黄色

III 生理的性質

(1) 生育温度範囲

生育温度：20～45℃，生育適温：35～42℃(40℃付近で菌体，培地とも黄色)

(2) セラチンの液化 液化する

(3) デンプンの加水分解 強く分解する

(4) 脱脂牛乳の凝固，ペプトン化

凝固せず，ペプトン化せず(褐変する)

(5) メラニン様色素の生成

ペプトン・イースト・鉄寒天培地，チロシン寒天培地のいずれも黒変する

IV 炭素源の同化性

炭 素 源	生 育	炭 素 源	生 育
L-アラビノース	+	イノシトール	+
D-キシロース	+	L-ラムノース	+
D-グルコース	+	ラフィノース	+
D-フラクトース	+	D-マンニトール	+
シュクロース	+	無 添 加	+

- 8 -

いし淡褐色であるのに対し、ストレプトミセス・フェオブレンスは赤褐色である。また、上記培地上での生産色素もSI-4228株は淡黄色ないし淡褐色であるのに対してストレプトミセス・フェオブレンスは淡褐色ないし赤褐色である。したがって、これらのことからSI-4228株はストレプトミセス・フェオブレンスの1系統と思われるが、未同定の種であると考えられる。そこで、本発明者は本菌株をストレプトミセス・エスビーSI-4228株と命名した。本菌株はストレプトミセス・エスビーSI-4228株として農工研に寄託されており、その受託番号はFERM P-6198である。

本発明においては、上記菌株のほか人工的変異手段によつて変異して得られる変異株であっても抗生物質SI-4228を生産する能力を有するものはすべて使用することができる。

新規抗生物質SI-4228は上記した抗生物質SI-4228生産菌を培養し、培養物から該抗生物質を採取することによつて得ることが出来る。

培養は微生物が利用できる栄養素を含む培地を用いて行ない、たとえば炭素源としてグルコース、シュクロース、デンプン、水アメ、デキストリン、グリセリンなどを使用できる。また、窒素源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、肉エキス、コーン・ステイブ・リカー、ペプトン、乾燥酵母、コーン・グルテン、大豆粉その他の有機または無機の窒素化合物などを使用することができる。その他必要に応じて食塩、リン酸塩類、カルシウム、亜鉛、マグネシウム、鉄などの無機塩類を添加したり、微生物の生育を助け、抗生物質 SI-4228 の生産に有用な物質を適宜添加することができる。

培養は好気的条件下に行なわれ、通常は 25 ~ 34℃、好ましくは 28 ~ 32℃ の温度で 3 ~ 10 日間、好ましくは 4 ~ 6 日間行なうことによつて抗生物質 SI-4228 の蓄積量が最高となる。抗生物質 SI-4228 は培養液内に蓄積される他、菌体内にも蓄積される。

本発明の抗生物質 SI-4228 は後記する理化

学的性質を有する。該性質を考慮して抽出、精製を行なう。すなわち、培養物に①酢酸エチル等の有機溶剤を加えて抽出を行ない、得られた抽出液を適当な手段によつて濃縮後、ベンゼンを用いて溶解する。次いで、シリカゲルカラムで分離、精製する②培養物の濾液をイオン交換樹脂または活性炭吸着に付し、次いで溶出を行なつた後、前述の如くシリカゲルカラムで分離精製し、さらにゲル濾過を行なつてから結晶化せしめる等の方法によつて精製された抗生物質 SI-4228 を得ることができる。

このようにして得られた抗生物質 SI-4228 は以下の如き理化学的性質を有している。

- (イ) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%
 (ロ) 分子量 480 (文献法による、溶媒: クロロホルム)
 (ハ) 赤外線吸収スペクトル 第 1 図に示す通りである。
 (ニ) 紫外線吸収スペクトル 第 2 図に示す通りである。
 (ヘ) 核磁気共鳴スペクトル 第 3 図に示す通りである。
 (ホ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = +7.3$ (c=1.0, メタノール)
 (ト) 溶解性 メタノール、エタノール、アセトン、酢酸

- 1 1 -

エチル、ベンゼン、エーテル、クロロホルム、四塩化炭素に可溶、水、n-ヘキサンに不溶

(ロ) 中 性 (電気泳動法による)

(ハ) 呈色反応 塩化第二鉄、2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(ニ) 融 点 114 ~ 116℃

(ヘ) 物質の色 白色針状結晶

抗生物質 SI-4228 についてポテト・グルコース寒天培地を用い倍希釈法により求めた各種微生物に対する最小発育阻止濃度は次のとおりである。

第 2 表

供 試 菌	最小発育阻止濃度(mcg/4g)
エシエリヒア・コリ (<i>Escherichia coli</i>)	> 100
バチルス・ズブティリス (<i>Bacillus subtilis</i>)	> 100
エルウイニア アロイデア (<i>Erwinia aroidea</i>)	> 100

- 1 5 -

- 1 2 -

第 2 表 (続き)

供 試 菌	最小発育阻止濃度(mcg/4g)
キリトモナス・キヤンストリス・ビブイオリゼー (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i>)	> 100
シュードモナス・ラクリマンズ (<i>Pseudomonas lachrymans</i>)	> 100
コリネバクテリウム・ミチガネンズ (<i>Corynebacterium michiganense</i>)	> 100
アグロバクテリウム・テヌメファシエンズ (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)	> 100
マイコバクテリウム・フレイ (<i>Mycobacterium phlei</i>)	> 100
サツカロミセス・セレビシエ (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	100
アスペルギルス・ニガー (<i>Aspergillus niger</i>)	> 100
ピリキュラリア・オリゼー (<i>Pyricularia oryzae</i>)	25
アルタナリア・マリ (<i>Alternaria mali</i>)	50
ボトリティス・シネレア (<i>Botrytis cinerea</i>)	50
ペリキュラリア・ササキイ (<i>Pellicularia sasakii</i>)	156
フザリウム・オキシボラム (<i>Fusarium oxysporum</i>)	100

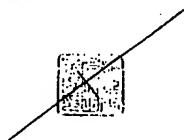
- 1 4 -

供 試 菌	最小発育阻止濃度(mg/40)
グロメラ・シングラータ (<i>Glomerella oingulata</i>)	5 0
コレトリカム・ラゲナリウム (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)	2 5
スクレロチニア・スクレロチオルム (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	2 5
ピシウム・アフアニデルマータム (<i>Pythium aphanidermatum</i>)	1 2. 5

本発明の抗生物質 SI - 4 2 2 8 は農業用殺菌剤や医薬などとして有用であり、特に灰色カビ病、炭疽病、紋枯病、イモチ病などに対して既存の殺菌剤よりも低濃度で十分な防除効果を示す。

前記した理化学的性質と生物学的性質を有する抗生物質 SI - 4 2 2 8 を既知物質と比較しても該当するものがなく、本物質は新規な抗生物質である。

次に、本発明の実施例を示す。



- 15 -

分を集めた。この面分を 40℃ で減圧濃縮、乾固した後、5 ml のクロロホルムを加えて溶解した。一方、セファデックス LH- 20 をクロロホルムに分散せしめた後、径 1.5 cm、長さ 1 m のガラスカラムに充填した。カラムの上端に SI- 4 2 2 8 物質を含むクロロホルム溶液をのせ、クロロホルムを展開液として分子篩による精製を行なった。

SI- 4 2 2 8 物質を含む面分をフラクションコレクターで集め、濃縮乾固したのち少量のアセトンを加え、さらに n-ヘキサンを加えて室内に 2 日間放置して 4.5 mg の針状結晶を得た。この物質は前記した理化学的性質を有していた。

実施例 2

pH 6.8 に調整したグルコース 4 g、ポリペプトン 0.1 g、酵母エキス 0.5 g、NaCl 0.08 g、K₂HPO₄ 0.1 g、コーン・ステイープ・リカー 0.6 g を含む培地 300 ml を容量 600 ml のジャーフアーメンターに注入し滅菌後、マイヤーフラスコで培養した種培養液 (ストレプトミセス・エスピー - SI- 4 2 2 8, FERM-P-6/98) 200 ml を接

実施例 1

pH 6.8 に調整したグルコース 3 g、ポリペプトン 0.1 g、NaCl 0.08 g、K₂HPO₄ 0.1 g、コーン・ステイープ・リカー 0.4 g を含む培地 100 ml を容量 500 ml のマイヤーフラスコ 100 本に 100 ml ずつ分注し 120℃ で 15 分間滅菌した。この培地にストレプトミセス・エスピー SI- 4 2 2 8 株 (FERM-P-6/98) を斜面培地から白金耳ずつ接種した。接種後、32℃ で 96 時間回転振盪培養 (回転数 200 r.p.m.) した。この培養物を集め、60 の酢酸エチルを加えて 20 分間攪拌した。後酢酸エチル層を集めた。酢酸エチル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、40℃ で減圧濃縮乾固した。濃縮物に 10 のベンゼンを加え、不溶物をろ過して除いた。溶解液は 5 ml になるまで減圧濃縮した。

シリカゲル (メルク社製) 30 g にベンゼンを加え、20 mm のガラスカラムに充填し、濃縮物をカラムの上端にのせ吸着せしめた。次いで、n-ヘキサン : アセトン (15 : 1) の液を流し、フラクションコレクターで SI- 4 2 2 8 物質溶出面

- 16 -

種した。接種後、32℃ で毎分 300 の無菌空気を通気し、600 r.p.m. で 96 時間攪拌培養を行なった。

培養後、除菌した母液をイオン交換樹脂アンバーライト XAD - 2.8 g を充填した径 100 mm、長さ 1 m のカラムに通し、有効成分を吸着せしめた。その後、吸着した有効成分をアセトン 200 ml を流して溶出せしめた。溶出液を 50℃ で減圧濃縮し 7.2 g の固型物を得た。固型物にクロロホルムを加えて溶解する面分を集め、40℃ で濃縮乾固し、6.2 g の固型物を得た。

一方、セファデックス LH- 20 をクロロホルムに分散し、径 40 mm、長さ 1.5 m のガラスカラムに充填した。このカラム上端に少量のクロロホルムに溶解せしめた固型物をのせ、クロロホルムを展開液としてフラクションコレクターで SI - 4 2 2 8 物質を含む面分を集めた。この面分を濃縮し、同一条件でセファデックス LH- 20 による精製をさらに 1 回繰り返して SI- 4 2 2 8 物質含有面分を集めた。この面分を濃縮、乾固し、次い

で少量のアセトンを加えて溶解し、さらにn-ヘキサンを加えて室内で2日間放置して220mgの針状結晶を得た。

実施例3

(乳剤)

SI-4228物質40部、キシレン45部、ソルボール3005X(東邦化学工業社製)15部を混合溶解させる。本剤を水で2,000~40,000倍に希釈して散布する。

実施例4

(水和剤)

SI-4228物質10部、デタージェント60(ライオン社製)0.9部、ソルボール800A(東邦化学工業社製)1.8部、ジークライト(ジークライト工業社製)87.3部を混合粉碎する。本剤を水で500~10,000倍に希釈して散布する。

試験例1

SI-4228物質のインゲン灰色カビ病に対する予防効果試験

播種後30日目インゲン(品種:キーストン、鉢植)5株に所定濃度の供試化合物を含む薬剤を散布し、散布24時間後にBotrytis Cinereaの孢子懸濁液(1×10⁸個/ml)に直径8mmのペーパーディスクをつけたものをインゲン1株につき2枚の葉の表面にのせた。比較のために薬剤を散布しない株にも同一の方法で菌を接種した。

その後、温度20℃、湿度100%の恒温、恒湿槽内にインゲンを保持し、5日後に葉面にできた壊死長径を葉の裏面より測定し、下記の方法により罹病度を算出した。

第3表に試験結果を示した。

$$\text{罹病度} = \frac{n_1 + n_2 + \dots + n_9 + n_{10}}{N_1 + N_2 + \dots + N_9 + N_{10}} \times 100$$

n: 試験葉の病斑の長径(mm)

N: 無散布葉

- 19 -

第3表

薬 剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228物質乳剤	200	0
	100	1.3
	50	3.1
	10	21.1
トップジン	500	0
	300	23.5
ポリオキシシン	500	4.8
	200	29.4

試験例2

ナス灰色カビ病、ピーマン灰色カビ病に対する予防効果試験

播種後40日目のナス(品種:千両、鉢植)およびピーマン(品種:ニューエース、鉢植)各5株に所定濃度の薬剤を散布し、あらかじめ寒天培地上に生育せしめたBotrytis Cinereaの菌糸を径4mmのコルクボーラーで打ち抜いたものを1株につき2枚の葉にのせた。その後、試験例1と同様の方法で試験を行なった。

- 20 -

結果を第4、第5表に示した。

第4表 ナス灰色カビ病に対する試験

薬 剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228物質 (水和剤)	200	1.2
	100	2.8
	50	4.9
	30	18.3
ポリオキシシン	200	20.5

第5表 ピーマン灰色カビ病に対する試験

薬 剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228物質 (水和剤)	200	2.5
	100	6.4
	50	7.7
	30	23.5
ポリオキシシン	200	28.3

試験例3

キウリ炭疽病に対する予防効果試験

播種後7日目のキウリ(品種:落合、鉢植)5株に所定濃度の供試化合物を含む薬剤を散布し、

散布24時間後に *Colletotrichum lagenarium* の孢子懸濁液 (1×10^6 個/ml) を散布した。比較のために薬剤を散布しない株にも同一の方法で菌を散布した。

その後、温度 23°C 、湿度100%の恒温、恒室槽内に5日間保持し、下記の方法により罹病度を算出した。結果を第6表に示す。

$$\text{罹病度} = \frac{1 \times a + 2 \times b + 3 \times c + 4 \times d}{5 \times \text{全調査葉数}(N)}$$

a, b, c, d 各スコアの葉の枚数

0: 無病徴

1: 病徴が10%未満

2: 病徴が10%以上、50%未満

3: 病徴が50%以上、75%未満

4: 病徴が75%以上

第6表

薬 剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228物質	200	0
(水和剤)	100	1.20
	50	2.00
トップジン	500	3.17

-23-

試験例4

紋枯病に対する予防効果試験

播種後5週目のソラマメ切葉10枚に所定濃度の薬液を散布し、 28°C の湿室に入れ24時間放置した。

一方、ポテトグルコース寒天培地であらかじめ 28°C 、3日間培養したイネ紋枯病菌 (*Pellicularia sasakii*) の菌叢周縁を直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き、上記薬液散布24時間後のソラマメ葉上に接種し、 28°C の湿室で5日間保持して病斑の状態を観察した。結果を第7表に示す。

第7表 紋枯病に対する試験

薬 剤	濃度 (ppm)	病斑の発生した枚数
SI-4228物質	100	0
(乳剤)	60	0
	30	1
	15	3
バリダマイシン	60	1
	30	5

試験例5

-24-

イネイモチ病に対する予防効果試験

4葉期の稲(品種農林29号)4鉢(1鉢/10本植)に所定濃度の薬液を散布し、風乾した。風乾後、イネイモチ病菌 (*Pyricularia oryzae*) の孢子懸濁液 (3×10^5 個/ml) を散布し、 25°C の温室内に4日間保持した後、頂葉面に発生した病斑の数を測定し、薬液無散布区と比較して防除価を算出した。結果を第8表に示す。

$$\text{防除価} = \frac{\text{薬液処理区の病斑数}}{\text{薬液無散布区の病斑数}} \times 100$$

第8表 イモチ病に対する試験

薬 剤	濃度 (ppm)	防除価
SI-4228物質	100	98.2
(乳剤)	50	94.3
	20	76.2
ヒノサン	300	93.2

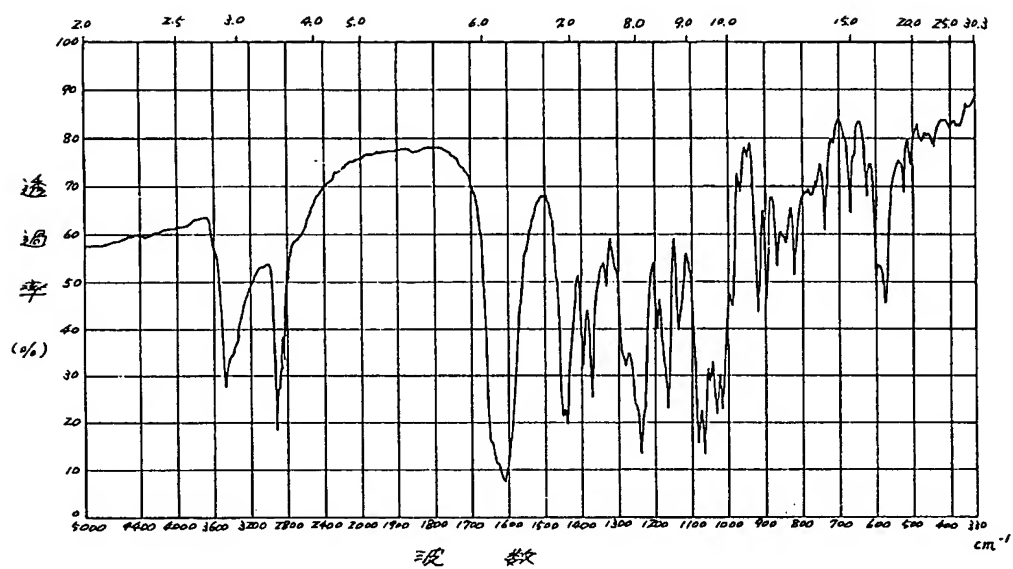
特許出願人 出光興産株式会社

代理人 弁理士 久保田 藤 郎

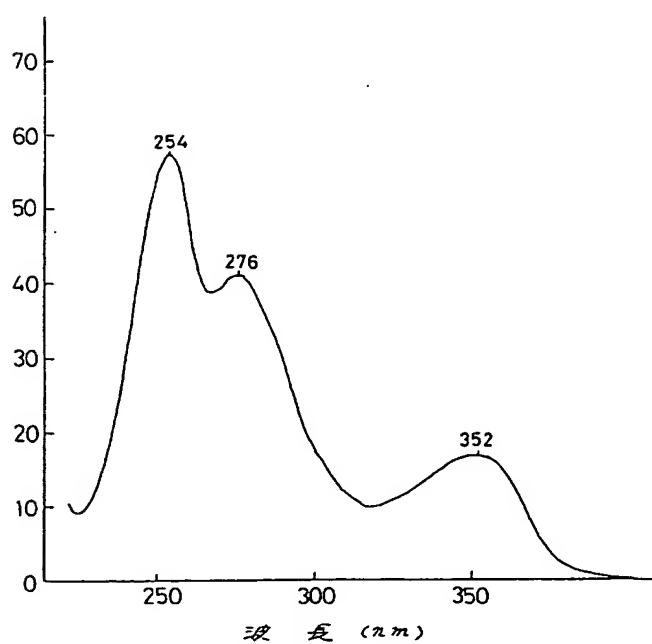
-25-

図面の浄書(内容に変更なし)

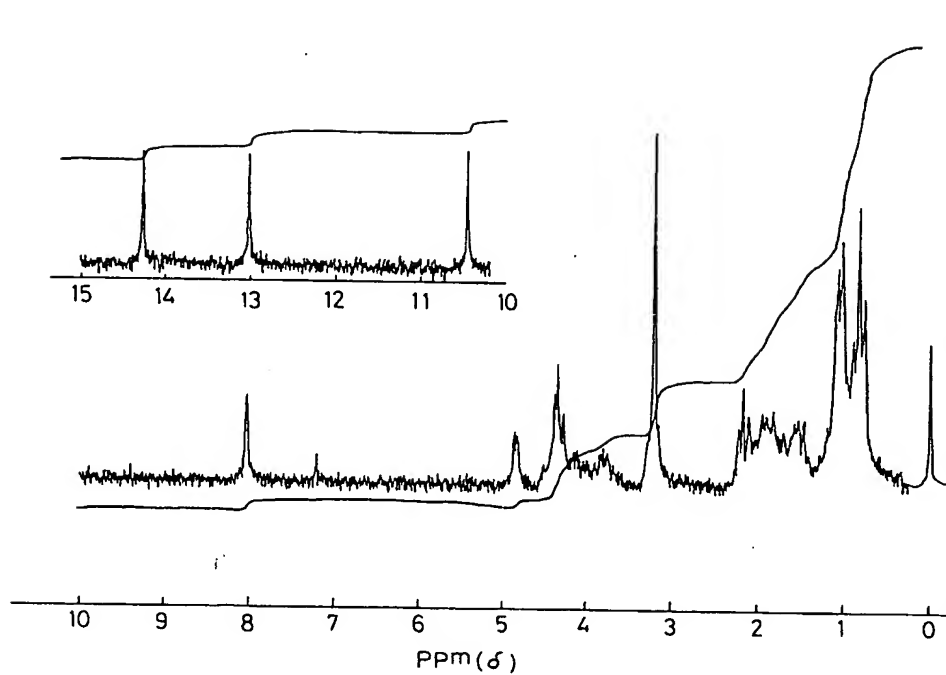
第 1 図



第 2 図



第 3 図



手続補正書（方式）（自発）

昭和57年1月12日

特許庁長官 島田 春樹 殿

1. 事件の表示

昭和56年12月29日付提出の特許願

2. 発明の名称

56-216567

新規抗生物質SI-4228物質，その製造方法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西樹ビル5階

(7407) 弁理士 久保田 藤 郎



5. 補正の対象

願書の添付書類の目録の欄および図面

6. 補正の内容

(1) 願書を別紙の通りに訂正する。

(2) 図面の浄書（内容に変更なし）を提出する。

7. 添付書類の目録

(1) 訂正願書	1 通
(2) 図面	1 通

(以 上)

昭和57年 1 月12 日

特許庁長官 島 田 春 樹 殿

1. 事件の表示

昭和56年12月29日付提出の特許願

2. 発明の名称

新規抗生物質SI-4228物質、その製造方法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407) 弁理士 久保田 勝 郎

電話(275)0721番



5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄、発明の詳細な説明の欄および図面の簡単な説明の欄

- 1 -

(9) 同第20頁3行目の「Botritis Cinerea」を「Botrytis Cinerea」に訂正する。

00 同第20頁4～5行目の「胞子懸濁液(1×10⁸個/ml)に直径8mmのペーパーディスクをつけたものを」を「胞子懸濁液(1×10⁸個/ml)を直径8mmのペーパーディスクにつけたものを」に訂正する。

01 同第21頁下から4行目の「Botritis Cinereaの菌糸」を「Botrytis Cinereaの菌叢」に訂正する。

02 同第25頁4行目の「イネイモチ病菌(Pyricularia oryzae)」を「イネイモチ病菌(Pyricularia oryzae)」に訂正する。

03 同第25頁9行目の

「
$$\text{防除価} = \frac{\text{薬液処理区の病斑数}}{\text{薬液無散布区の病斑数}} \times 100$$
」を

「
$$\text{防除価} = \left(1 - \frac{\text{薬液処理区の病斑数}}{\text{薬液無散布区の病斑数}}\right) \times 100$$
」

に訂正する。

04 同第25頁の第8表の次に下記の記事を加入

- 3 -

6. 補正の内容

(1) 特許請求の範囲を別紙の通りに訂正する。

(2) 明細書第5頁下から3行目の「(2.5Y, 8.5/6)」を「(2.5Y, 8.5/6, Munsell Book of Colorによる。以下同じ)」に訂正する。

(3) 同第9頁下から4行目の「第35頁」を「第358頁」に訂正する。

(4) 同第12頁下から2行目の「+73」を「+4°」に訂正する。

(5) 同第14頁下から5行目の「ピリキュラリア・(Pyricularia ^{正す。}オリゼー」を「ピリキュラリア・オリゼー」に訂正する。
(Pyricularia oryzae)

(6) 同第15頁下から7行目の「炭疽病」を「炭疽病」に訂正する。

(7) 同第16頁11行目の「攪拌した、後」を「攪拌した後、」に訂正する。

(8) 同第18頁4～5行目の「アンバーライトXAD-2.8L」を「アンバーライトXAD-2, 8L」に訂正する。

- 2 -

する。

「4. 図面の簡単な説明

第1図はSI-4228物質の赤外線吸収スペクトル、

第2図はSI-4228物質の紫外線吸収スペクトル、

第3図はSI-4228物質の核磁気共鳴スペクトルである。」

(以上)

特許請求の範囲

1. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228。

- (イ) 元素分析値 $C: 62.1\%$, $H: 7.4\%$, $N: 0\%$
 (ロ) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)
 (ハ) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
 (ニ) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
 (ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
 (ヘ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = \pm 4^\circ$ ($C=1.0$, メタノール)
 (ト) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, n-ヘキサンに不溶
 (チ) 中性 (電気泳動法による)
 (リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性
 (ヲ) 融点 $114 \sim 116^\circ C$
 (ウ) 物質の色 白色針状結晶

- 1 -

新規抗生物質 SI-4228 の製造法。

3. ストレプトミセス属に属し、抗生物質 SI-4228 を生産する能力を有する微生物がストレプトミセス・エスピー SI-4228 (FERM P-6198) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

4. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228

- (イ) 元素分析値 $C: 62.1\%$, $H: 7.4\%$, $N: 0\%$
 (ロ) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)
 (ハ) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
 (ニ) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
 (ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
 (ヘ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = \pm 4^\circ$ ($C=1.0$, メタノール)
 (ト) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, n-ヘキサンに不溶
 (チ) 中性 (電気泳動法による)
 (リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

- 3 -

2. ストレプトミセス属に属し、下記の性質を有する抗生物質 SI-4228

- (イ) 元素分析値 $C: 62.1\%$, $H: 7.4\%$, $N: 0\%$
 (ロ) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)
 (ハ) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。
 (ニ) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。
 (ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。
 (ヘ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = \pm 4^\circ$ ($C=1.0$, メタノール)
 (ト) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水, n-ヘキサンに不溶
 (チ) 中性 (電気泳動法による)
 (リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性
 (ヲ) 融点 $114 \sim 116^\circ C$
 (ウ) 物質の色 白色針状結晶

を生産する能力を有する微生物を培養し、培養物から上記抗生物質を採取することを特徴とする新

- 2 -

- (ヲ) 融点 $114 \sim 116^\circ C$

- (ウ) 物質の色 白色針状結晶

を有効成分として含有する農薬用殺菌剤。

5. 灰色カビ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

6. 炭疽病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

7. 紋枯病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

8. イモチ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

手続補正書 (方式)

昭和57年5月26日

特許庁長官 島田 春樹 殿

1. 事件の表示

特願昭56-214547

2. 発明の名称

新規抗生物質SI-4228物質, その製造方法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407) 弁理士 久保田 藤郎



5. 補正命令の日付

昭和57年4月9日

昭和57年4月27日(発送日)

- 1 -

手続補正書 (自発)

昭和58年1月17日

特許庁長官 若杉 和夫 殿

1. 事件の表示

特願昭56-214547

2. 発明の名称

新規抗生物質SI-4228物質, その製造方法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

出光興産株式会社

4. 代理人

〒104

東京都中央区京橋1丁目1番10号

西勘ビル5階

(7407) 弁理士 久保田 藤郎

電話 (275) 0721 裕



5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄, 発明の詳細な説明の欄, 図面の簡単な説明の欄および図面

- 1 -

6. 補正の対象

明細書の発明の名称の欄

7. 補正の内容

明細書第1頁3行~4行目の発明の名称「新規抗生物質SI-4228, その製造方法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤」を「新規抗生物質SI-4228物質, その製造方法およびそれを有効成分とする農薬用殺菌剤」に訂正する。

(以上)

- 2 -

6. 補正の内容

(1) 特許請求の範囲(昭和57年1月12日付提出の手続補正書参照)を別紙の通りに訂正する。

(2) 明細書第12頁下から2行目の

「 $[\alpha]_D^{25} = +4.0 (C=1.0, \text{メタノール})$ 」(昭和57

年1月12日付提出の手続補正書参照)を

「 $[\alpha]_D^{25} = +5.4 (C=0.1, \text{メタノール})$ 」に訂正する。

(3) 同第25頁の第8表の次に加入した文章

(昭和57年1月12日付提出の手続補正書の補正の内容第00項参照)である

「4. 図面の簡単な説明

第1図は・・・・・・である。」

を

「4. 図面の簡単な説明

第1図はSI-4228物質のKBr法による赤外線吸収スペクトル、第2図はSI-4228物質のメタノール中での紫外線吸収スペクトル、第3図はSI-4228物質の重クロロホルム中での核磁気共鳴スペクトルである。」

- 2 -

に訂正する。

(4) 第2図を別紙の通りに訂正する。

(以上)

特開昭58-116686 (13)

特許請求の範囲

1. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228。

(イ) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(ロ) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(ハ) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(ニ) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(ヘ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{21} = +54$ (C=0.1, メタノール)

(ト) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水、n-ヘキサンに不溶

(チ) 中性 (電気泳動法による)

(リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(ル) 融点 114~116℃

(ロ) 物質の色 白色針状結晶

2. ストレプトミセス属に属し、下記の性質を有する抗生物質 SI-4228

- 3 -

- 1 -

(イ) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(ロ) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(ハ) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(ニ) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(ヘ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{21} = +54$ (C=0.1, メタノール)

(ト) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水、n-ヘキサンに不溶

(チ) 中性 (電気泳動法による)

(リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(ル) 融点 114~116℃

(ロ) 物質の色 白色針状結晶

を生産する能力を有する微生物を培養し、培養物から上記抗生物質を採取することを特徴とする新規抗生物質 SI-4228 の製造法。

3. ストレプトミセス属に属し、抗生物質 SI-

4228 を生産する能力を有する微生物がストレプトミセス・エスビー SI-4228 (FERM P-6198) である特許請求の範囲第2項記載の方法。

4. 下記の性質を有する新規抗生物質 SI-4228

(イ) 元素分析値 C: 62.1%, H: 7.4%, N: 0%

(ロ) 分子量 480 (蒸気圧法による、溶媒: クロロホルム)

(ハ) 赤外線吸収スペクトル 第1図に示す通りである。

(ニ) 紫外線吸収スペクトル 第2図に示す通りである。

(ホ) 核磁気共鳴スペクトル 第3図に示す通りである。

(ヘ) 比旋光度 $[\alpha]_D^{21} = +54$ (C=0.1, メタノール)

(ト) 溶解性 メタノール, エタノール, アセトン, 酢酸エチル, ベンゼン, エーテル, クロロホルム, 四塩化炭素に可溶、水、n-ヘキサンに不溶

(チ) 中性 (電気泳動法による)

(リ) 呈色反応 塩化第二鉄, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンに陽性、ニンヒドリンに陰性

(ル) 融点 114~116℃

(ロ) 物質の色 白色針状結晶

- 2 -

- 499 -

- 3 -

を有効成分として含有する農薬用殺菌剤。

5. 灰色カビ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

6. 炭疽病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

7. 紋枯病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

8. イモチ病防除剤である特許請求の範囲第4項記載の農薬用殺菌剤。

- 4 -

第2図

